

DE 199 09 692

The invention is based on the object to provide a device for examining a fast reacting chemical reaction with which the spectrum of the starting compound of a chemical reaction can be recorded without first mixing the starting compound. This object is
5 solved by the invention by a throughflow measuring cell having

- a probe chamber for each starting compound of the reaction, respectively,
which is provided with supply means and discharge means for the starting
10 compound, wherein
- the probe chambers for the starting compound are arranged such that a
single, first optical ray can shine there through commonly, and
- 15 - a probe chamber for the reaction product through which a second optical ray
can shine through, in which the discharge means of the probe chambers for the
starting compounds terminate and which is provided with an outlet.



⑬ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

⑫ Patentschrift
⑩ DE 199 09 692 C 1

⑤ Int. Cl. 7:
G 01 N 21/05
B 01 L 3/00
G 01 N 35/08
// G 01 N 21/09, 21/31

②① Aktenzeichen: 199 09 692.9-52
②② Anmeldetag: 5. 3. 1999
②③ Offenlegungstag: -
②④ Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: 16. 3. 2000

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

⑦③ Patentinhaber:
Forschungszentrum Karlsruhe GmbH, 76133
Karlsruhe, DE

⑦② Erfinder:
Füchsle, Kathrin, 76227 Karlsruhe, DE; Moss, David,
Dr., 76337 Waldbronn, DE

⑤⑥ Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
gezogene Druckschriften:

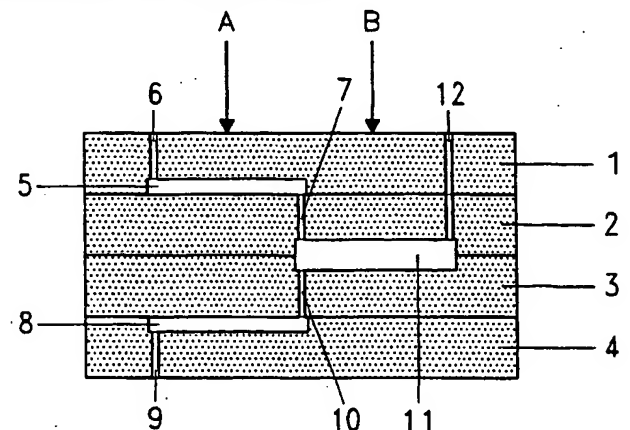
DE 44 29 846 A1
DE 298 09 591 U1
DD 2 31 649 A1
WO 99 03 584 A1

FRESENIUS, J.: Anal Chem. Vol. 351 (1995)
351, S. 701-707;
Analytica Chimica Acta, Vol. 261 (1992),
S. 59-65;

⑤④ Durchflußmeßzelle zur Untersuchung einer schnell ablaufenden chemischen Reaktion

⑤⑦ Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung zur Untersuchung einer schnell ablaufenden chemischen Reaktion vorzuschlagen, mit der das Spektrum der Ausgangsverbindungen einer chemischen Reaktion aufgenommen werden kann, ohne daß die Ausgangsverbindungen zuvor gemischt werden. Die Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch eine Durchflußmeßzelle mit

- jeweils einem Meßraum für jede Ausgangsverbindung der Reaktion, der mit einer Zu- und einer Ableitung für die Ausgangsverbindung vorgesehen ist, wobei
- die Meßräume für die Ausgangsverbindungen so angeordnet sind, daß sie gemeinsam mit einem einzigen, ersten optischen Strahl durchstrahlbar sind, und
- einem mit einem zweiten optischen Strahl durchstrahlbaren Meßraum für das Reaktionsprodukt, in den die Ableitungen der Meßräume für die Ausgangsverbindungen münden und der mit einem Ablauf versehen ist.



DE 199 09 692 C 1

DE 199 09 692 C 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft eine Durchflußmeßzelle zur Untersuchung einer schnell ablaufenden chemischen Reaktion gemäß dem ersten Patentanspruch.

In Fresenius J. Anal. Chem., Vol. 351 (1995) S. 701-707 wird eine Durchflußmeßzelle beschrieben, in der die Meßräume parallel in einer Ebene angeordnet sind und sich durch einsteckbare Glasfasern optisch beliebig miteinander verbinden lassen. Diese Meßzelle ist auch Gegenstand der DE 44 29 846 A1.

Die Veröffentlichung Analytica Chimica Acta, Vol. 261 (1992) S. 59-65 beschreibt Durchflußmeßzellen mit paralleler und mit serieller Anordnung der Meßräume.

Aus der DD 231 649 A1 ist eine Vorrichtung zur Messung von Differenzspektren bekannt, die eine pneumatisch oder elektromechanisch bewegbare Doppelkammer-Adsorptionsküvette enthält.

In der WO 99/03584 A1 wird eine Durchflußzelle beschrieben, die aus zwei übereinanderliegenden Polymerschichten besteht, zwischen denen Mikrofluidkanäle vorgesehen sind.

Aus der DE 298 09 591 U1 ist eine Durchflußmeßvorrichtung mit IR-Küvette zur Untersuchung einer schnell ablaufenden chemischen Reaktion bekannt. Diese Vorrichtung dient zur Identifizierung von pharmazeutischen Wirkstoffen, wobei untersucht wird, ob zwei Reaktanten miteinander eine Bindung eingehen. Mit der Vorrichtung kann beispielsweise festgestellt werden, ob ein Ligand mit einem vorgegebenen Protein einen Komplex bildet. Die Untersuchung erfolgt in der Weise, daß die Reaktanten miteinander gemischt werden und mit der Mischung zu zwei verschiedenen Zeiten ein IR-Spektrum aufgenommen wird. Das erste Spektrum wird vorzugsweise unmittelbar nach der Vermischung der Reaktanten aufgenommen und das zweite Spektrum nach einer angemessenen Wartezeit. Aus dem Differenzspektrum der beiden Spektren läßt sich erkennen, ob eine chemische Reaktion stattgefunden hat, denn nur in diesem Fall unterscheiden sich die beiden Spektren. Die wesentlichen Komponenten der Vorrichtung sind Drehventile und eine übliche IR-Küvette. Die Reaktanten werden mit Hilfe von Pumpen in einen abgeschlossenen Raum zwischen zwei Drehventilen gebracht, mit einer Hochdruckpumpe, die destilliertes Wasser fördert, gemischt und in die IR-Küvette gepumpt, worauf sofort das erste Spektrum aufgenommen wird. Das zweite Spektrum wird nach der Wartezeit aufgenommen.

Bei dieser Vorrichtung kann nur ein Spektrum der bereits miteinander gemischten Ausgangsverbindungen aufgenommen werden. Bei sehr schnell ablaufenden chemischen Reaktionen hat sich zu dem Zeitpunkt, an dem das erste Spektrum aufgenommen wird, bereits ein Teil der Ausgangsverbindungen umgesetzt.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung zur Untersuchung einer schnell ablaufenden chemischen Reaktion vorzuschlagen, mit der das Spektrum der Ausgangsverbindungen einer chemischen Reaktion aufgenommen werden kann, ohne daß die Ausgangsverbindungen zuvor gemischt werden.

Die Aufgabe wird durch die Durchflußmeßzelle gemäß dem ersten Patentanspruch gelöst. In den weiteren Ansprüchen sind bevorzugte Ausgestaltungen der Durchflußmeßzelle angegeben.

Die erfindungsgemäße Durchflußzelle besitzt jeweils einen Meßraum für jede der Ausgangsverbindungen der chemischen Reaktion und einen Meßraum für das Reaktionsprodukt. Da üblicherweise zwei Reaktanten miteinander zur Reaktion gebracht werden, sind in einer bevorzugten

Ausführungsform zwei Meßräume für die Ausgangsprodukte vorhanden. Die Durchflußmeßzelle kann jedoch in einfacher Weise auch so ausgelegt werden, daß drei Reaktanten miteinander zur Reaktion gebracht werden.

Die Ausgangsverbindungen treten durch jeweils eine Zuleitung in den jeweiligen Meßraum ein und verlassen den Meßraum durch jeweils einen Ablauf. Die Abläufe münden in den Meßraum für das Reaktionsprodukt, der seinerseits ebenfalls mit einem Auslauf versehen ist. Die Ausgangsverbindungen lassen sich somit separat beispielsweise mit Hilfe einer Dosierpumpe in die jeweiligen Meßräume einspeisen, wonach sie sich in dem Meßraum für das Reaktionsprodukt vereinigen und miteinander reagieren. Das Reaktionsprodukt verläßt den Meßraum über den Ablauf.

Dabei sind die Meßräume für die Ausgangsprodukte so angeordnet, daß sie gemeinsam von einem einzigen optischen Strahl durchstrahlbar sind. Die Art des verwendeten, optischen Strahls hängt von der Art des gewünschten Spektrums ab. Zur Erzeugung von IR-Spektren wird der Strahl einer kontinuierlichen IR-Strahlungsquelle verwendet. In gleicher Weise kann die Durchflußmeßzelle für die Erzeugung von UV-Spektren oder Spektren des sichtbaren Lichts (VIS-Spektren) eingesetzt werden, wenn die entsprechenden kontinuierlichen Strahlungsquellen verwendet werden. Die Meßräume für die Ausgangsverbindungen sind daher vorzugsweise so angeordnet, daß sie in Richtung des optischen Strahls gesehen miteinander fluchten. Form und Größe der Meßräume sind dabei frei wählbar: sie werden in Abhängigkeit vom Herstellungsverfahren, von der Art der gewünschten Spektren (IR, VIS, UV) und von der Menge der eingesetzten Ausgangsverbindungen gewählt. Zur Erzeugung von IR-Spektren in Wasser als Lösungsmittel eignen sich Meßräume für die Ausgangsprodukte mit optischen Weglängen von 2 µm bis 10 µm; wird als Lösungsmittel schweres Wasser (D₂O) eingesetzt, sollten die optischen Weglängen 2 µm bis 25 µm betragen.

Vorzugsweise sind die Meßräume für die Ausgangsverbindungen gleich geformt und von gleicher Größe, insbesondere von gleicher optischer Dicke. Im Interesse einer optimalen Reproduzierbarkeit wird die optische Dicke eines jeden Meßraumes sehr exakt, etwa auf < 1%, konstant gehalten. Beträgt die optische Weglänge eines jeden Meßraums für die Ausgangsverbindungen beispielsweise 10 µm, soll sie daher in den einzelnen Meßräumen um weniger als 0,1 µm differieren.

Der Meßraum für das Reaktionsprodukt ist so angeordnet, daß er von einem zweiten optischen Strahl durchstrahlbar ist. Der zweite optische Strahl soll dabei ausschließlich den Meßraum für das Reaktionsprodukt und der erste optische Strahl ausschließlich die Meßräume für die Ausgangsverbindungen durchstrahlen. Die Dicke des Meßraums für das Reaktionsprodukt in der Richtung des zweiten Strahls wird vorzugsweise so gewählt, daß sie der Summe der Dicken der Meßräume für die Ausgangsverbindungen in der Richtung des ersten Strahls entspricht.

An sich wäre es technisch möglich, die Meßräume für die Ausgangsverbindungen so anzuordnen, daß sie jeweils einzeln von entsprechend vielen optischen Strahlen durchstrahlbar wären. Eine solche Anordnung würde jedoch einen vermeidbaren zusätzlichen konstruktiven Aufwand hinsichtlich der Anordnung der Strahlungsquelle bedingen, ohne daß ein Vorteil damit verbunden wäre. Zudem wäre die Bildung von Differenzspektren bei einer solchen Meßzelle wesentlich aufwendiger.

Die Durchflußmeßzelle läßt sich am einfachsten durch Aufeinanderstapeln verschiedener bearbeiteter Lagen eines optisch transparenten Materials herstellen. Für den Einsatz der Durchflußmeßzelle zur Erzeugung von IR-Spektren

können als optisch transparentes Material Siliciumwafer oder CaF_2 -Plättchen verwendet werden. Siliciumwafer weisen im Bereich von 7000 bis 1000 cm^{-1} eine ausreichende Transparenz für IR-Strahlung auf; Calciumfluorid ist ebenfalls für IR-Strahlung, aber auch für UV-Strahlung und für Strahlung im sichtbaren Bereich durchlässig. Für den Einsatz der Durchflußmeßzelle im UV-Bereich läßt sich außerdem Quarzglas verwenden. Alle genannten Materialien sind darüber hinaus gegen viele chemische Verbindungen ausreichend resistent. In die Lagen können zur Herstellung einer ersten Ausführungsform etwa durch Fräsen oder durch die üblichen Methoden der Mikrostrukturfertigung, wie z. B. Ätzen, Vertiefungen eingebracht werden, die der gewünschten Form der Meßräume entsprechen. Durch das Aufeinanderstapeln der einzelnen bearbeiteten Lagen werden die Meßräume hergestellt, wobei sich die Zu- und Ableitungen durch Bohrungen erzeugen lassen. Alternativ können zwischen den Lagen Zwischenschichten, die mit Durchbrüchen in der für die Meßräume gewünschten Form versehen sind, angeordnet werden, wobei die Zwischenschichten nicht optisch transparent zu sein brauchen. Die Zu- und Ableitungen lassen sich wiederum durch Bohrungen in den Lagen herstellen.

Die Durchflußmeßzelle wird im folgenden anhand einer Figur näher erläutert.

Die Figur zeigt eine bevorzugte Ausführungsform der Meßzelle.

Diese besteht aus vier übereinander gestapelten, bearbeiteten Siliciumwafern 1, 2, 3, 4, die etwa 500 μm dick sind. In den obersten Siliciumwafer ist eine Vertiefung 5 mit einer Größe von 4 mm \times 12 mm und einer Tiefe von 5 μm eingeätzt, die zusammen mit dem benachbarten Siliciumwafer 2 einen Meßraum für die erste Ausgangsverbindung bildet. Am Rand der Vertiefung weist der Siliciumwafer eine Durchbohrung 6 mit einem Durchmesser von 200 μm auf, die die Zuleitung für den Meßraum darstellt. Am gegenüberliegenden Rand der Vertiefung 5 im obersten Siliciumwafer 1 ist durch den benachbarten Siliciumwafer 2 eine weitere Bohrung 7 angebracht. In analoger Weise wird der unterste Siliciumwafer 4 mit einer Vertiefung 8 und einer Bohrung 9 versehen. Der benachbarte Siliciumwafer 3 enthält wiederum eine Bohrung 10. Die Bohrungen 7, 10 in den Siliciumwafern 3 und 2 münden in einen Meßraum 11 für die Reaktionsprodukte, der durch Einätzen von Vertiefungen in die Siliciumwafer 2 und 3 hergestellt ist. Die optische Weglänge dieses Meßraums entspricht der Summe der Tiefen der beiden Vertiefungen 5 und 8 in den Siliciumwafern 1 und 4. An der den Bohrungen 7, 10 gegenüberliegenden Seite des Meßraums 11 ist eine Ablaufbohrung 12 angebracht, die sich durch die Siliciumwafer 1 und 2 erstreckt.

Die Vertiefungen 5, 8, die die Meßräume für die Ausgangsverbindungen bilden, sind so angeordnet, daß sie sich von einem IR-Strahl A gemeinsam durchstrahlen lassen. Der Meßraum 11, der die Reaktionsprodukte aufnimmt, wird von einem zweiten IR-Strahl B durchstrahlt.

Die Durchflußmeßzelle eignet sich in besonderer Weise zur Untersuchung schnell ablaufender Reaktionen. Sie kann beispielsweise zur Verfolgung der Reaktion von Avidin mit Biotin eingesetzt werden, die in weniger als 1 ms vollständig abläuft. In diesem Fall werden bei der in der Figur dargestellten Ausführungsform gleichzeitig eine Biotin-Lösung durch die Bohrung 6 und eine Avidin-Lösung in die Bohrung 9 der Durchflußmeßzelle eingespeist. Die beiden Lösungen gelangen in die durch die Vertiefungen 5, 8 gebildeten Meßräume, wo sie gemeinsam von dem IR-Strahl A durchstrahlt werden, so daß ein erstes IR-Spektrum aufgenommen werden kann. Danach werden die beiden Lösungen in dem Meßraum 11 vereinigt, wobei Biotin und Avidin mit-

einander reagieren. Der Meßraum 11 wird von dem IR-Strahl B durchstrahlt, so daß sich ein IR-Spektrum des Reaktionsprodukts erzeugen läßt. Sofern nicht zwei IR-Strahlenquellen A und B eingesetzt werden, kann auch eine einzige Strahlenquelle von der Stelle A an die Stelle B verschoben werden.

Patentansprüche

1. Durchflußmeßzelle zur Untersuchung einer schnell ablaufenden chemischen Reaktion mehrerer Ausgangsverbindungen mit

- a) jeweils einem Meßraum (5, 8) für jede Ausgangsverbindung der Reaktion, der mit einer Zu- und einer Ableitung (6, 7, 9, 10) für die Ausgangsverbindung versehen ist, wobei
- b) die Meßräume (5, 8) für die Ausgangsverbindungen so angeordnet sind, daß sie gemeinsam mit einem einzigen, ersten optischen Strahl (A) durchstrahlbar sind,
- c) einem mit einem zweiten optischen Strahl (B) durchstrahlbaren Meßraum (11) für das Reaktionsprodukt, in den die Ableitungen (7, 10) der Meßräume (5, 8) für die Ausgangsverbindungen münden und der mit einem Ablauf (12) versehen ist, und wobei
- d) die Durchflußmeßzelle aus mehreren Lagen (1, 2, 3, 4) eines für den optischen Strahl transparenten Materials aufgebaut ist und
- e) die Meßräume (5, 8, 11) entweder
 - aus jeweils einer Lage (1, 2, 3, 4) herausgearbeitet oder
 - durch mit Durchbrüchen versehene Zwischenschichten gebildet sind.

2. Durchflußmeßzelle nach Anspruch 1, bei der die Meßräume (5, 8) für die Ausgangsverbindungen so angeordnet sind, daß sie in Richtung des ersten optischen Strahls (A) miteinander fluchten.

3. Durchflußmeßzelle nach Anspruch 1 oder 2, bei der die Summe der Dicken der Meßräume (5, 8) für die Ausgangsverbindungen in Richtung des ersten optischen Strahls (A) der Dicke des Meßraums (11) für das Reaktionsprodukt in Richtung des zweiten optischen Strahls (B) entspricht.

4. Durchflußmeßzelle nach Anspruch 1, 2 oder 3 mit Silicium oder Calciumfluorid als optisch transparentem Material.

Hierzu 1 Seite(n) Zeichnungen

